Dr. Justyn Karliński

1891-96

Zur Kenntniss der Vertheilung der Wasserbakterien in grossen Wasserbecken.

Von

Dr. **Justyn Karliński.**

Gelegentlich der vor Kurzem im Auftrage der Landesregierung für Bosnien und Herzegowina von mir ausgeführten Erforschung der Tiefen des Borke-Sees im Bezirke Konjica bin ich in bakteriologischer Hinsicht zu gewissen Resultaten gelangt, die vielleicht für Fachgenossen nicht ohne Interesse sein werden, und vielleicht so manchen bei passender Gelegenheit zur Nachprüfung anregen.

Der Borke-See liegt, laut der von mir vorgenommenen barometerischen Bestimmung 403 m über der Adria, von mächtigen (bis 2000 m hohen) Gebirgsstöcken theilweise umgeben, wird theilweise von Schneewasser aus denselben gespeist, misst nach meinen Ergebnissen 26,42 Hektar und seine angeblich „unergründliche“ Tiefe wurde von mir mittelst verlässlicher, an anderer Stelle näher zu beschreibender Lothungsinstrumenten an der tiefsten Stelle mit **17 Meter** befunden. Die Ufer des Sees sind in variirender Breite mit Schilf bewachsen, dessen einzelne Exemplare bis zu 6 m Höhe aufwachsen. Den Grund des Sees bildet ein feiner Schlamm, der laut mikroskopischer Untersuchung sehr viel pflanzliche Ueberreste beherbergt, ausserdem wurden von mir in ihm von Diatomaceen: Cyclotella operculata, Navicula nobilis, N. oblonga, N. affinis, Cymbella gastroides, Stauroneis anceps und S. cordinalis, von den Rhizopoden: Gromia socialis gefunden.

Die Temperatur des Wassers an der Oberfläche, in der Mitte des Sees gemessen, betrug am 3./6. bei Lufttemperatur 26,7 ° C nur 13,1 ° C; dieselbe wechselte jedoch, dank der vielen, am Grunde des Sees befindlichen Quellen, deren Lage schon durch die blosse Beobachtung des Wasserspiegels bestimmbar ist, sehr oft, so dass ich nicht selten, trotz gleich langem Verbleib des gleichen Thermometers im Wasser, Temperaturen von 11,6 ° C und 12,8° C ablesen konnte.

Um die Temperatur des Wassers in verschiedenen Tiefen bestimmen zu können, bediente ich mich genau geprüfter Thermometer, deren Quecksilbersäule mechanisch stark heruntergedrückt wurde, deren Kugel mit einer dünnen Wachsschicht umgeben war. So präparirte Thermometer zeigen die Temperatur des umgebenden Mediums, wie ich mich durch Kontrollversuche mit Maximum-Minimumthermometer überzeugen konnte, erst nach 10—15 Minuten und der Stand der Quecksilbersäule verändert sich nach einer Versetzung in ein anderes Medium erst nach 8—10 Minuten, wenn das letztere eine höhere Temperatur als das erstere besass.

Bei Vermeidung der Stellen, in denen sich die Grundquellen des Sees befanden, konnte ich auf Grund von 60 diesbezüglichen Messungen folgende Zahlen als Durchschnittstemperaturen auffinden:

Durchschnittstemperatur des Wasserspiegels 13,6° C.
" in d. Tiefe von 5 m 13,4° C.
" " " " " 10 m 13,1° C.
" des Seegrundes . . . 13,0° C.

Das Wasser war klar, ohne Geruch, von fadem Geschmack und in der Nähe des Schilfrohres befanden sich zahlreiche Krebsthiere aus dem Genus der Daphniden.

Laut chemischer Untersuchung der mitgenommenen Wasserproben beherbergte das Wasser in 100000 Theilen:

Abdampfrückstand	30,20
Salpetersäure	0,65
Chlor	3,17
Schwefelsäure	4,75
Kohlensäure	7,01
Kalk und Magnesia	13,69
Die vorhandenen organischen Stoffe reduzirten $KaMnO_4$	9,82,

wobei ich bemerken muss, dass die einzelnen Wasserproben, je nachdem dieselben von der Nähe des Ufers oder von der Mitte genommen wurden, im Gehalte an organischen Substanzen bedeutend variirten.

Die zur Entnahme der Proben aus dem Seegrunde benutzten Apparate waren in der Art der eisernen Raubthierfallen konstruirt, deren einzelne Branchen mit Leinwand überzogen waren, die beim Auffallen auf den Boden durch Zusammenklappen eine gehörige Menge des Grundes erfassten. Die Schnur der entsprechend beschwerten Lothungsapparate stand mit einer Federwage im innigsten Kontakt, so dass dieselbe in dem Momente, wo der Apparat auf den Boden auffiel, zu wiegen aufhörte, wodurch der störende Fehler des Mitzählens der durch Eigengewicht weiter sinkenden Leine vermieden wurde.

Zur Entnahme von Wasserproben aus verschiedenen Tiefen benutzte ich einige nach dem Prinzip des von B. Lepsius[1]) angegebenen Apparates konstruirte Geräthe, wobei der Kolben durch ein Erlenmayer'sches Kölbchen ersetzt war, und die mir jedesmal circa 80 ccm des gemischten Wassers lieferten. Selbstverständlich waren die Apparate sowie auch das Quecksilber, mit dem sie ursprünglich gefüllt waren, mittelst Wasserdampf vorher sorgfältig sterilisirt.

Jede Wasserprobe wurde sofort an Ort und Stelle zu Rollkulkulturen mit 10% Gelatine verarbeitet; aus jeder Wasserprobe wurden auch Rollkulturen unter Sauerstoffabschluss nach der Buchner'schen Methode bereitet, um eventuelle Anaëroben mit auf den Rollplatten zu bekommen.

Bevor ich zur Besprechung der Ergebnisse schreite, will ich kurz die biologischen Charakteristika der gefundenen Bakterienarten aufzählen:

1) B. Lepsius, Ueber das Wasser in seiner Bedeutung für die Versorgung der Städte etc. Frankfurt a/M. 1886. Gärtner-Timan: Die chemische und mikroskopische bakteriologische Untersuchung des Wassers" 1889. p. 33.

Bacillus I. Gelatine verflüssigend, bildet dellenförmig eingesunkene, grauweisse Kolonieen: In Stichkulturen verflüssigt schnell strumpfartig; am Agar bildet er saftigen, weissen Rasen, an Kartoffeln schmutzig-grauen Belag; unbeweglich, ohne Geissel und ohne Sporen, wächst nicht ohne Sauerstoff.

Bacillus II. Kurze, fast ovale Stäbchen, unbeweglich, ohne Sporen, bildet porzellanglänzende, weisse, konzentrisch gezeichnete Kolonieen, die die Gelatine nicht verflüssigen, im Stichkanale kümmerlich an der Oberfläche in Form eines saftigen, weissen Rasens wachsen. In Zuckergelatine heftige Gasentwickelung, am Agar auf den Impfstrich beschränktes Wachsthum, auf Kartoffeln saftiger grauweisser Belag. Ohne Sauerstoff kein Wachsthum.

Bacillus III. Mässig grosse Stäbchen mit seitlich stehenden Geisseln, stark beweglich, bilden unregelmässige, meist sternförmige, grauweisse Kolonieen, die die Gelatine schnell verflüssigen. Im Stichkanal bäumchenförmiges Wachsthum. Am Agar grauweisser Belag, auf Kartoffeln kümmerliches Wachsthum. Wächst, jedoch sehr langsam, ohne Sauerstoff.

Bacillus IV. Wächst nicht bei Sauerstoffzutritt. Bildet runde, gelblichweisse, mit zierlichen Auswüchsen versehene Kolonieen. Verflüssigt Gelatine nicht; wächst ziemlich schnell, bildet auf Agar und Kartoffeln gelblichen Rasen. Unbeweglich. Wächst besser bei niedrigen Temperaturen.

Micrococcus A. Bildet runde, gelbe, nicht verflüssigende Kolonieen, die sich durch konzentrische Auflagerungen schnell vergrössern. Im Stichkanale perlschnurartiges Wachsthum. Auf Agar und Kartoffeln gelber Rasen, wächst nicht ohne Sauerstoff.

Micrococcus carneus Zimmermann. Bildet blassrothe, kreisrunde Auflagerungen mit etwas dunklerem Zentrum. Wächst gut im Stichkanal, jedoch ohne Farbstoffbildung, während die oberflächliche Auflagerung rosarothe Farbe besitzt. Am Agar fleischfarbige, saftige Auflagerung. Auf Kartoffeln saftiger mennigrother Rasen. Wächst nicht ohne Sauerstoff.

Micrococcus B. Bildet weisse, erhabene, runde Auflagerungen, in Stichkulturen wächst er in Form von Nagelkulturen. Am Agar saftiger, auf den Strich beschränkter Rasen, auf Kartoffeln kein Wachsthum. Wächst schwach ohne Sauerstoff.

Micrococcus C. Wächst nur ohne Sauerstoff, bildet grauweisse, mit vielen Auswüchsen versehene, runde Kolonieen, die bald die Gelatine verflüssigen. Im Stichkanal strumpfförmige Verflüssigung unter Bildung eines weissen Bodensatzes und faden Geruches. Am Agar kümmerliches, auf den Strich beschränktes Wachsthum. Auf Kartoffeln saftiger Rasen.

Aus dem Schlamme, welcher sich auf dem Seegrunde befand, liessen sich fast vorwiegend nur Bacillus IV und Micrococcus C kultiviren.

Die Durchschnittszahlen, welche ich bei Verwendung von aus der Oberfläche des Sees entnommenen Proben erhielt, zeigen darauf hin, dass der Bakteriengehalt des Wasserspiegels keineswegs ein gleichmässiger ist. Während in der Entfernung von 200 m vom

Ufer 4000 entwickelungsfähige Keime in 1 ccm Wasser vorgefunden wurden, beherbergte das Uferwasser in der Nähe des wachsenden Schilfrohres nicht selten 16 000 Kolonieen und das aus der Mitte des Sees entnommene fast immer unter 3000 pro ccm. Noch interessanter gestaltete sich der Bakteriengehalt bei Entnahme des Wassers aus verschiedenen Tiefen. Während an der Oberfläche 4000 Kolonieen aufzufinden waren, die auf Bacillus I und II, Micrococcus A, B und Micrococcus carneus entfielen, waren in der Tiefe von 5 m, nb. wenn der See an jener Stelle bedeutend tiefer war, kaum 1000 Kolonieen in einem ccm enthalten. In dieser Tiefe trat erst der Bacillus III, welcher stets auf der Oberfläche fehlte, zum Vorschein. In der Tiefe von 10 m waren in den allerseltensten Fällen mehr als 600 Keime pro ccm, und in der Tiefe von 12—16 m war deren Anzahl kaum 2—300 pro ccm vorhanden. Hier verschwanden Bacillus I und II, Micrococcus A und Micrococcus carneus, und an ihre Stelle traten die Anaëroben Bacillus IV und Micrococcus C. Wurde unvorsichtiger Weise der Apparat bis auf den Seegrund eingelassen, was schon nach der Trübung der entnommenen Wasserprobe zu sehen war, so stieg der Bakteriengehalt bedeutend, so dass nicht selten 6000 Keime aus dem so getrübten Wasser pro ccm zu züchten waren.

Diese Resultate waren bei 60 so entnommenen Proben immer konstant, so dass ich an einen Zusammenhang zwischen der Tiefe der Wasserschicht und dem Bakteriengehalt denken muss, und es wäre sehr interessant, wenn erneuerte Untersuchungen, z. B. in den grossen schweizerischen Wasserbecken, diese in einem herzegowinischen Wasserbecken konstatirte Thatsache bestätigen würden.

Konjica, im Juni 1892.

Isolirung eines „Lab"-Fermentes aus Bakterienkulturen.

Von

H. W. Conn,

Wesleyan University, Middletown, Ct., U. S. A.

Seit einer Reihe von Jahren ist es bekannt, dass gewisse Bakterienarten, wenn sie in Milch wachsen, zwei Fermente oder Enzyme erzeugen, deren eines ein labähnliches Ferment, das andere ein proteolytisches, dem Trypsin verwandtes Ferment ist. Dieses trifft im Allgemeinen zu für die Bakterienarten, welche die Gelatine verflüssigen. Wenn solche Bakterien in sterilisirter Milch wachsen, gerinnt zunächst der Käsestoff, was aber nicht einer Säurebildung zuzuschreiben ist, da die Reaktion entweder neutral oder schwach alkalisch ist. Es wurde daher angenommen, dass ein labähnliches Ferment gebildet würde, welches den Niederschlag des Käsestoffes verursacht. Als Resultat eines späteren Wachsthums der nämlichen Organismen wird

der niedergeschlagene Käsestoff aufgelöst oder peptonisirt, bis eine mehr oder weniger durchsichtige Flüssigkeit sich bildet, welche bei verschiedenen Bakterienarten eine grosse Anzahl von Eigenschaften gemein hat. Diese Auflösung des Käsestoffes scheint unter dem Einflusse digestiver Fermente ein der Verdauung sehr analoger Vorgang zu sein, und es wurde daher angenommen, dass von Bakterien ein trypsinähnliches Ferment gebildet werde.

Die kürzlich von Fremi veröffentlichte Arbeit (Arch. f. Hyg. XIV. p. 1) zeigt, dass das tryptische Ferment aus den Bakterienkulturen in praktisch reiner Form isolirt werden kann und dass die Eigenschaften dieses so isolirten Fermentes denen einiger Verdauungssäfte sehr gleich kommen. Fremi hat jedoch das proteolytische Ferment nicht von dem Labfermente getrennt; seine Isolirungsmethode diente nur dazu, um beide niederzuschlagen, wenn beide in seinen Kulturen vorhanden waren. Fremi hat überhaupt das Labferment nicht untersucht, und wir können nicht sagen, ob es in seinen Versuchen erzeugt wurde, oder nicht, oder ob sein Ferment nicht Lab enthielt. Seither ist es Niemandem gelungen, das Labferment bestimmt zu isoliren, und seine Existenz wurde einfach aus dem Verhalten der Milch unter der Einwirkung von Mikroorganismen geschlossen. Es ist mir nun kürzlich gelungen, dieses labähnliche Ferment von dem proteolytischen Ferment zu trennen, und zwar in einer wenigstens annähernd reinen Form.

Meine Isolirungsmethode ist folgende: Der Versuchsorganismus wird in sterilisirte Milch geimpft und bleibt in dieser Milch für einige Tage seinem Wachsthum überlassen. Die Milch gerinnt bald, doch lässt man das Wachsthum der Organismen einige Tage fortschreiten, nachdem das Gerinnen eingetreten ist, da der Versuch bestätigte, dass zu dieser Zeit das Labferment quantitativ nur gering ist, aber während ungefähr zwei Wochen fortfährt, zuzunehmen. Eine Woche oder 10 Tage nach dem Gerinnen der Milch schüttelt man dann tüchtig mit etwas sterilisirtem Wasser, um das Geronnene zu zertheilen und das Lab aufzulösen, dann filtrirt man durch ein Porzellanfilter. Man erhält dabei eine klare Flüssigkeit, welche natürlich alle löslichen Fermente enthält. Die Flüssigkeit ist manchmal farblos, obschon gewöhnlich bernsteinfarbig oder bräunlich; die Farbe variirt nach den verschiedenen Bakterienarten und nach Massgabe der stattgefundenen tryptischen Digestion. Aus diesem Materiale können die löslichen Fermente durch Alkohol niedergeschlagen werden und das Präzipitat, wenn gesammelt und getrocknet, hat sowohl die Eigenschaft, Milch zu gerinnen, als auch die Gelatine zu peptonisiren. Ein solcher Niederschlag ist daher weder reines Lab, noch rein proteolytisches Ferment, sondern ein Gemisch beider, vereinigt mit anderen Unreinigkeiten. Um das Labferment im reineren Zustande zu erhalten, habe ich die ursprünglich von Blumenthal eingeführte Separationsmethode versucht, um das Lab vom Pepsin zu isoliren. Sie besteht aus folgendem: Das Porzellanfiltrat wird mit 0,1 Proz. Schwefelsäure etwas angesäuert. Durch diese Ansäuerung bildet sich kein Niederschlag. Darauf fügt man zum Filtrat einen bedeutenden Ueberschuss von gewöhnlichem Salz, bis sich eine übersättigte